

6 蜜蜂の麻痺病ウイルスの浸潤状況と衛生対策

県中央家畜保健衛生所

猿山由美、濱谷景祐、山口修

はじめに

蜜蜂の麻痺病の原因として、慢性麻痺病ウイルス（以下 CBPV）及び急性麻痺を起こす急性麻痺病ウイルス（以下 ABPV）、カシミール蜂ウイルス（以下 KBV）及びイスラエル急性麻痺ウイルス（以下 IAPV）が知られている¹⁾。これら3種の急性麻痺病ウイルスは、遺伝上非常に近縁にあるので、まとめて AKI と表される^{2,3,4)}。

麻痺病は春から夏に好発し、発症すると神経症状を呈し、体や羽を痙攣させながら地面を這う。また、成蜂が大量に死亡するため、経済的損失が大きい¹⁾（表1）。

昨年、当所管内で麻痺病の病性鑑定及び浸潤状況調査を実施し、複数の養蜂家において、CBPV 及び AKI の浸潤が確認されている⁵⁾。

表1 麻痺病ウイルスの種類と症状

麻痺病		病原略称	症状
慢性	慢性麻痺病	CBPV	・春～夏に好発 ・成蜂では体毛が脱毛し黒色化、腹部のバンド模様が不鮮明になる
急性 AKI	急性麻痺病	ABPV	・体や羽を痙攣させながら地面を這う ・大量死
	カシミール蜂	KBV	
	イスラエル急性麻痺	IAPV	

ミツバチヘギイタダニ（以下ダニ）は小豆色で、長さ1mm、幅2mm程度、楕円形で扁平な形をしており、蜜蜂の腹部の隙間に潜り込んで寄生する（図1）。蜂児が寄生されると、発育途中で死亡や成蜂の矮小化も起きるため、養蜂家に大きな損害をもたらす。さらには、ダニがウイルス性疾病の媒介に関与するため問題となる⁶⁾。

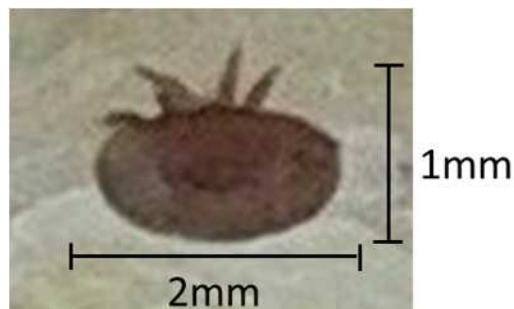


図1 ダニ

本年は、養蜂家ごとの季節によるウイルス遺伝子の浸潤状況調査並びにダニからのウイルス遺伝子の検出を試みた。併せて、各養蜂家に飼育管理方法について聞き取りを行い、これらの結果を基に、養蜂家に適切な助言や指導を行うことを目的とした（図2）。

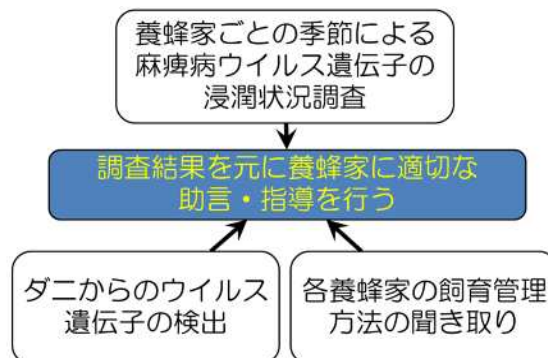


図2 調査内容と目的

麻痺病ウイルス遺伝子の浸潤状況調査

【対象及び期間】

5戸（A～E 養蜂家）が飼育する健康な西洋蜜蜂について、延べ20群を対象とし、平成26年2月～11月に計4回、各回1群ずつ採材を実施した。

- 第1回目 冬期（2月下旬～3月上旬）
- 第2回目 春期（4月）
- 第3回目 夏期（6月下旬～7月）
- 第4回目 秋期（9月～11月）

【材料及び方法】

供試材料：巣脾を450のビニール袋に向けて軽く振り下ろし、1群あたり成蜂30匹程度を袋に閉じ込めて捕獲した。供試材料は検査の実施まで-80で凍結保存した。

ウイルス学的検査：各群10匹の頭部及び腹部をすり潰し培養液に加えて乳剤とし、常法の処理を行った後、逆転写ポリメラーゼ連鎖反応（以下RT-PCR）にてCBPV及びAKIについて遺伝子の検出を行った^{3,7,8}。

遺伝子解析：昨年採材したCBPVの陽性対照として用いた検体について、シーケンス及び遺伝子解析ソフトMEGA6を用いて、塩基配列を解析し系統樹を作成した。また、AKIの陽性対照についても、シーケンスを実施した。

【結果】

ウイルス学的検査の結果、CBPVの遺伝子は春期にのみ、A及びC養蜂家で検出された。

A養蜂家では、春期の採材後、巣箱を約20km離れた別の養蜂場に転飼した。転飼先で、夏期にはCBPVの遺伝子は検出されなかった

が、AKIの遺伝子が検出された。A養蜂家では昨年、麻痺病の発生があったが、今年は臨床症状を示さなかった。

C養蜂家では、春期にCBPVの遺伝子が検出された後、群の衰退が認められ、夏期の採材前には消滅した。そのため、夏期以降は別の健康群から採材を行った。

一方、AKIの遺伝子は季節を限定せず、全ての養蜂家延べ9群から検出された。なお、E養蜂家では、転飼後に巣箱が元の養蜂場に戻った秋期に、AKIの遺伝子が初めて検出された（表2）。

表2 検査結果 +：陽性 空欄：陰性

養蜂家	ウイルス	H25		H26			
		症状	遺伝子検出	冬期	春期	夏期	秋期
A	CBPV		+		+		
	AKI	+	+		→ 転飼	+	
B	CBPV						
	AKI	+	+			+	
C	CBPV				+		
	AKI	+	+	+	→ 別の巣箱から採材	→ 消滅	+
D	CBPV						
	AKI			+	→ 巣箱の交換	+	+
E	CBPV						
	AKI				→ 転飼	→ 別の巣箱から採材	→ 転飼（巣箱の掃蕩）

遺伝子解析の結果、CBPVの陽性対照はこれまでに日本で検出されたものと同じクラスタに属した（図2）。また、同様にAKIの陽性対照についても、シーケンスにより既報の株と高い相同性を確認した。

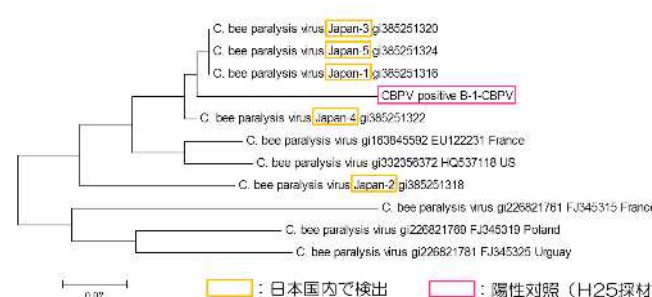


図2 CBPVの系統樹

.ダニからのウイルス遺伝子検出

【対象及び時期】

A 養蜂家が飼育する西洋蜜蜂5群を対象に、秋期に成蜂の採材と同時に行った。

【材料及び方法】

供試材料： 巣門周囲の排泄物を収集し、その中からダニのみを採取し、検査の実施まで-80 で凍結保存した。検査には、全重量0.123g を供試した（図3）。

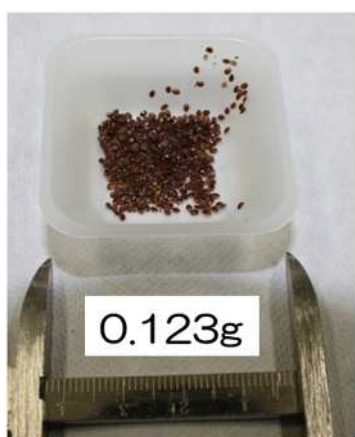


図3 ダニの全重量

ウイルス学的検査： 前述の麻痺病ウイルス遺伝子の浸潤状況調査の方法と同様に、ダニをすり潰し培養液に加えて乳剤とし、常法の処理を行った後、RT-PCRにより、CBPV及びAKIについて遺伝子検出を行った。

【結果】

ダニからは AKI の遺伝子が検出された。なお、同時に採材した成蜂からはウイルス遺伝子は検出されなかった。

.飼育管理方法の聞き取り調査

【対象及び方法】

麻痺病ウイルス遺伝子の浸潤状況調査で採材を実施した養蜂家5戸（A～E養蜂家）に、アンケート様式を送付し、FAXにより返信を求めた。アンケートの項目は質問1～7とし、巣箱の清掃及び消毒、巣脾の交換及び消毒、ダニ対策の方法及び経験年数等について質問した。

【結果】

表3 調査結果

×：不実施

養蜂家	遺伝子検出 ウイルス	麻痺病 臨床症状	経験年数	飼育群数	巣箱		巣脾		殺ダニ薬	
					清掃頻度 (回/年)	消毒	交換	消毒	使用薬剤数	使用頻度 (回/年)
A	CBPV AKI	H25	50	350	1～2	火炎	×	消毒薬B	2	2
B	AKI	H25 H26	5	20	12	火炎	×	×	1	3
D	AKI	—	10	30	6	火炎	×	×	2	3
E	AKI	—	25	40	1	火炎 消毒薬A	4～5年	消毒薬A	1	1

C 養蜂家は都合により聞き取り調査未実施

表3の上段のA及びB養蜂家は、麻痺病がこれまでに発生したことがある養蜂家であり、下段のD及びE養蜂家は、AKIの遺伝子が検出されたが臨床症状を示さなかった養蜂家である。

巣箱の清掃については、1年に1～2回行う養蜂家が2戸、1～2ヶ月に1回行う養蜂家が2戸であった。巣箱の消毒については、全養蜂家がパーナーによる火炎消毒を実施しており、E養蜂家では消毒薬も併用していた。

巣脾の交換の目安は3年程度と言われているが¹⁾、適切な時期に交換をしている養蜂家

はなく、巣脾の消毒を実施している養蜂家は2戸であった。

殺ダニ薬について、使用薬剤や使用方法に問題がある養蜂家はなかったが、全養蜂家が、薬剤の効果も感じるが耐性も感じているとの回答があった。

各養蜂家の飼育管理方法はおおむね良好で、臨床症状を示した養蜂家と示さなかった養蜂家間で明確な差異はなかった。

まとめ

採材を行った5戸全ての養蜂家でAKIのウイルス遺伝子が検出され、2戸でCBPVの遺伝子が検出された。1年を通して採材を行った結果から、ウイルス遺伝子の検出は、季節や転飼等の要因によって変化することが示唆された。また、ダニからAKIの遺伝子が検出された。

考察及び課題

麻痺病ウイルスはすでに広く浸潤しているため、適切な飼育管理を行うことで麻痺病の発生を予防すること、また、ダニがAKIの遺伝子を保持し、ウイルスの伝播に関与することから、適切なダニ対策を行うことが重要であると考えられた。

また、巣箱については、消毒は適宜実施されていたが、巣脾については、適切な時期に交換をしている養蜂家はなかったため、巣脾の交換や消毒を定期的に行うことは飼育管理の向上につながると考えられた。

現在は、経験や知識の浅い趣味養蜂家も急増しているため、指導の対象は幅広い。薬剤耐性を起こさないように、殺ダニ薬の適正な

使用方法を指導し、乱用を防ぎ、また、巣箱や巣脾の適切な衛生管理を指導し、ウイルスの蔓延を防いでいくことが、今後の課題である。そのため、家畜衛生情報の発行並びに効果的な消毒方法について検討を行いたいと考えている。

今後も継続して得られた情報を養蜂家に還元し、蜜蜂の疾病対策の一助になり、養蜂業の発展に寄与できるように努めていきたい。

【参考文献】

- 1)みつばち協議会:「養蜂マニュアル」(2011)
- 2)Joachim R. de Miranda et al:The Acute Paralysis virus-Kashmir bee virus-Israeli acute paralysis virus complex(2009)
- 3) Roy M.Francis et al:SINGLE ASSAY DETECTION OF ACUTE BEE PARALYSIS VIRUS,KASHMIR BEE VIRUS AND ISRAELI ACUTE PARALYSIS VIRUS(2012)
- 4)Roy M.Francis et al: Varroa-Virus Interaction in Collapsing Honey Bee(2013)
- 5)猿山由美ら: 蜜蜂の麻痺病の発生事例とウイルス性疾病の浸潤状況, 栃木県家畜保健衛生所業績発表会集録,55,58-63 (2013)
- 6) 依博:タワラの養蜂参考資料ライブラリー, No.3, 2008年12月29日改訂
- 7) Nielsen,S et al: Incidence of acute paralysis virus, black queen cell virus, chronic bee paralysis virus, deformed wing virus, Kashmir bee virus and sacbrood virus in honey bees (*Apis mellifera*) in Denmark(2007)
- 8) Moritomo,T et al: Molecular Identification of Chronic Bee Paralysis Virus Infection in *Apis mellifera* Colonies in Japan(2012)